Lane Medical Library

Aus der Universitäts-Kinderklinik Kiel.
(Direktor: Professor Dr. Rominger)

Über den Einfluß des D-Vitamins auf die Wirksamkeit der Phosphatasen.

Jnaugural Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde in der Medizin bei der Hohen Medizinischen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel.

Vorgelegt von:
Günther Rath aus Kreuztal.

Kiel 1933.

Nr. 75.

Rektoratsjahr 1932/33.

Referent: Prof. Dr. R o m i n g e r

zum Druck genehmigt

Prof. Dr. K ü l z

Dekan.

Trotzdem zahllose Arbeiten über Rachitis und D-Vitamin vorliegen, wissen wir noch wenig über die Vorgänge, die sich bei der Heilung der Rachitis unter dem Einfluß von D-Vitamin oder von ultraviolettem Licht vollziehen. Der Angriffspunkt der antirachitischen Medikation ist noch völlig dunkel. Man hat versucht, ihn in das Gebiet der Fermente zu verlegen. Schon lange war eine Störung des Fermenthaushalts, namentlich der Tätigkeit der Phosphatasen, bei der Rachitis bekannt. So stellt schon Demuth fest, daß der Knorpel der Wachstumszone des rachitischen Säuglings eine viermal so starke Spaltkraft als normaliter besitzt. Er erklärt dies als eine Abwehrreaktion, indem möglichst große Mengen Phosphor abgespalten werden sollen. Heymann konnte am rachitischen Organismus den Fermentreichtum von Knochen und Niere, dagegen Fermentverarmung des Dünndarms nachweisen. Außerdem fand er, daß parenteral zugeführter organischer P zu 100% im Urin ausgeschieden wird. Bei der Rachitis findet er eine erniedrigte Kurve mit organischem P. Dies spricht aber nicht gegen eine gesteigerte Fermenttätigkeit, da die Ausscheidung bei Rachitis erhöht ist, wie es Dodds, Adams und Hensch-Kramar für Diastase und Urinphosphat nachwiesen. Demuth fand eine vielfach stärkere Spaltkraft als normal im Serum des Rachitikers; Kay fand dasselbe an Versuchen in vitro. Auf der anderen Seite hat man aber auch schon lange eine Beeinflussung des Fermenthaushalts durch die antirachitische Behandlung feststellen können. So findet z. B. Pallung eine Hemmung der Phosphatasen nach Ultraviolettbestrahlung und D-Vitamin beim normalen Organismus; Pinkussen kam in vitro zu demselben Ergebnis.

Es lag nun nahe, erstens diese Versuche auf den lebenden Organismus zu übertragen und zweitens die Frage zu untersuchen, ob tatsächlich der antirachitische Faktor des bestrahlten Ergosterins die Wirkung auf den Fermenthaushalt besitze oder ob diese gar an den toxischen Faktor des D-Vitamins gebunden ist.

Ersteres konnte dadurch geschehen, daß man einem Tier eine organische P-Verbindung injizierte und den Ablauf der Erhöhung des anorganischen P im Blut verfolgte, um so

einen Maßstab für die Umwandlungsgeschwindigkeit des organ. Phosphats in anorganisches, also einen Maßstab für die Tätigkeit der Phosphatasen zu haben, letzteres durch Vergleich der Beeinflussung der Fermenttätigkeit durch bestrahltes Ergosterin mit der Wirkung einer Höhensonnenbehandlung. Bomskov und v. Rose konnten nämlich zeigen, daß die Erhöhung der phosphatämischen Kurve, wie sie Warkany nach Injektion von anorgan. Phosphat bei der D-Hypervitaminose beschreibt, bei Ultraviolettbestrahlung nicht eintritt, also jedenfalls nicht dem antirachitischen Faktor des D-Vitamins zugeschrieben werden kann. Es war deshalb die Frage diskutabel, ob nicht die Wirkung des bestrahlten Ergosterins auf die Fermenttätigkeit, jedenfalls zum Teil wenigstens, garnicht auf dem antirachitischen, sondern vielmehr auf dem Calcinosefaktor des D-Vitamins beruhe. — Im folgenden bin ich diesen Fragen nachgegangen.

Methodik.

Zur Phosphatbestimmung bediente ich mich der Mikromethodik von Warkany, die sehr vorteilhaft ist, weil sie mit wenig Serum ausgeführt werden kann. Dadurch ist es möglich, in kurzen Zeitabständen wiederholte Blutentnahmen zu machen, ohne dem Tier dadurch zu schaden oder die Werte zu beeinflussen. So kann man den Ablauf der P-Steigerung kurvenmäßig darstellen. Ich entnahm aus der Ohrvene des Kaninchens 1 ccm Blut, ließ es 1 Stunde stehen und zentrifugierte dann. Wichtig ist, wie Warkany feststellte, daß alle Blutproben gleich lange Zeit bis zur Serumgewinnung stehen bleiben, weil aus den Erythrocyten Phosphat frei wird und so die Sera, die länger standen, höhere Werte liefern.

Ich benutzte Kaninchen von 2600—3500 g Gewicht und injizierte nach Entnahme des Nüchternwertes pro kg Körpergewicht 1,5 ccm einer 10 %igen Lösung von Na.-glycerino-phosphor. subcutan. Das ist pro kg Körpergewicht 0,15 g Substanz = 0,01612 g P in organ. Bindung.

Die Kaninchen mußten 6 Stunden vor Beginn und während des Versuches hungern in der Zwischenzeit bekamen sie Rüben und Hafer.

Die phosphatämische Kurve wurde untersucht: 1. am normalen Kaninchen, 2. an Kaninchen, die 48 Stunden vor Beginn des Versuches 10 ccm Vigantol = 100 mg bestrahltes Ergosterin durch die Schlundsonde bekommen hatten, 3. an Kaninchen, die 4 Einheiten Höhensonne erhalten hatten.

I. Normale phosphatämische Kurve.

Tabelle 1.

Kaninchen	Nr. 1	2	3	4		
Nüchtern P-Wert	4,50	5,00	4,10	4,55	mg	%
erhält pro kg 0,15 g Na. glycerophosphor.						
nach ¼ Stunde	5,50	5,50	4,60	6,10	mg	%
„ 1 „	6,25	6,75	5,65	6,40	mg	%
„ 2 Stunden	6,25	6,75	6,00	6,40	mg	%
„ 3 „	5,50	5,50	5,42	5,65	mg	%
„ 5 „	4,75	5,20	4,40	4,90	mg	%
„ 7 „	4,75	4,44	4,40	4,75	mg	%
D-Wert:	1,75	1,75	1,90	1,85	mg	%

Die Kurve zeigt einen durchschnittlichen Nüchternwert von 3,90 mg % und einen D-Wert von 1,80 mg %. Nach 5—7 Stunden ist der Ausgangswert wieder erreicht. Der Höhepunkt der Kurve ist schon nach 1 Stunde erreicht.

Bei einigen Tieren erhielt ich sehr niedrige Normal-Nüchternwerte. Ich führe dies darauf zurück, daß die Tiere einen plötzlichen Klimawechsel erleiden mußten. Um einen Fehler bei Errechnung der Durchschnittswerte möglichst zu vermeiden, habe ich diese Werte miteinbezogen, weil ich an denselben Tieren die Bestimmung nach Vigantolgabe machte.

Meine Kurven sind sogenannte „Ideale phosphatämische Kurven", wie Warkany sie genannt hat; d. h., es werden alle P-Werte auf einen gemeinsamen Nüchternwert reduziert.

II. Phosphatämische Kurve nach Vigantolfütterung.

Tabelle 2.

Kaninchen	Nr. 1	2	3	5	6	7		
Nüchtern-P	5,65	5,92	5,70	3,32	3,47	2,90	mg	%
erhält pro kg 0,15 g Na.glycerophosphor. subcutan.								
nach ¼ Stunde		5,92	5,70	3,47	3,50	3,12	mg	%
„ 1 „	5,70	6,56	5,92	3,52	4,41	3,23	mg	%
„ 2 Stunden	5,92	6,25		3,67	4,54	3,47	mg	%
„ 3 „	6,10	5,92	6,50	3,57	4,03	3,23	mg	%
„ 5 „	6,70	5,20	6,10	3,32	3,62	3,40	mg	%
„ 7 „					3,57		mg	%
D-Wert:	0,45	0,64	0,80	0,35	1,07	0,57	mg	%

Der Nüchternwert beträgt durchschnittlich 4,50 mg %, D = 0,64 mg %. Der Nüchternwert ist um 0,60 mg % erhöht. Der Kurvengipfel wird nach 2½ Stunden erreicht, der

Normalwert nach 5 Stunden. Der Gipfel der Kurve ist schmal, während er bei der normalen phosphatämischen Kurve breit und flach ist. (Abb. 1)

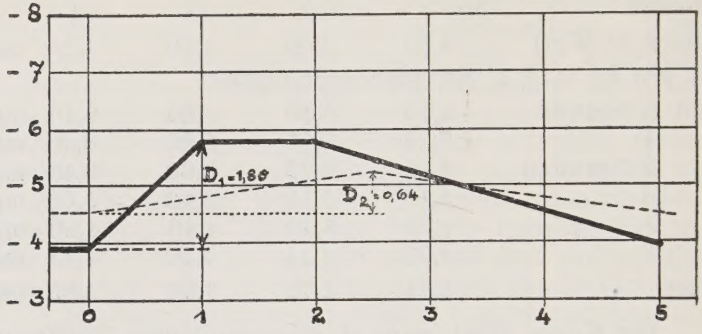

Abb. 1

III. Die phosphatämische Kurve nach Ultraviolettbestrahlung.

Tabelle 3.

Kaninchen Nr.	8	9	10	11	12	13	
Nüchtern-P vor der Bestrahlung mit 4 Einheiten	2,63	3,47	2,80	3,20	3,20	2,80	mg %
Nüchtern-P nach	2,81	3,47	3,32	3,90	3,84	3,05	mg %
erhält pro kg 0,15 g Na. glycerophosphor. subcutan.							
nach ¼ Stunde	3,12	4,03	3,47	4,03		3,47	mg %
„ 1 „	2,80	4,31	3,78	4,03	4,10	3,32	mg %
„ 2 Stunden	2,71	3,47	3,47	3,84	3,84	3,32	mg %
„ 3 „	2,65	3,47	3,32		3,67	3,05	mg %
„ 5 „	2,08	3,33	3,05		3,63	3,08	mg %
D-Wert:	0,31	0,84	0,46	0,13	0,26	0,42	mg %

Als zweckmäßig hat sich eine Bestrahlung mit insgesamt 4 Einheiten ergeben, die ich auf 3 Dosen verteilt in Abständen von je 1 Stunde auf den in Handtellergröße rasierten Rücken applizierte. Bei dieser Dosierung ist die Wirkung deutlich, wenn man 3 Stunden 40 Minuten nach der letzten Bestrahlung mit dem Versuch beginnt. Wichtig ist die Innehaltung dieser Zwischenpause von etwa 4 Stunden, weil vorher die P-Erniedrigung noch nicht deutlich zum Ausdruck kommt; z. B. in Versuch Nr. 9, wo schon nach 2 Stunden die Bestimmung vorgenommen wurde.

Die phosphatämische Reaktion ähnelt weitgehend der beim Vigantoltier. Die Durchschnittswerte sind: Erhöhung des

Nüchternwertes um 0,62 mg %, D = 0,28 mg %; der Gipfel ist spitz. Der D-Wert ist nach 1 Stunde erreicht, der Ausgangswert nach 3 Stunden. (Abb. 2)

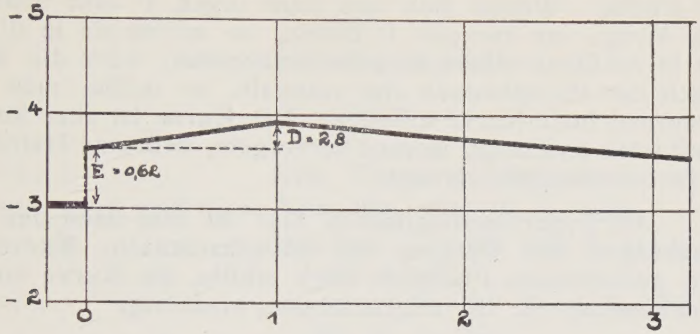

Abb. 2

Ergebnisse.

Diese Versuche zeigen, daß die Kurven mit organ. gebundenem P sowohl bei Hypervitaminose als auch nach Ultraviolettbestrahlung am gesunden Organismus einen erniedrigten Verlauf zeigt.

Ich untersuchte den Ablauf der P-Erhöhung im Serum nach Injektion einer organ. P-Verbindung. Die erhaltene Kurve gibt also einen Wert für die Spaltungsgeschwindigkeit des organischen P, also einen Maßstab für die Tätigkeit der Phosphatasen. Diese ist, wie die Kurven zeigen, am gesunden Tier sehr konstant. Behandle ich nun das Tier mit antirachitischen Mitteln, so tritt eine deutliche Verzögerung der Spaltung des organ. P ein.

Hieraus dürfen wir schließen, daß die antirachitische Behandlung die Phosphatasen hemmt, und zwar ist diese Wirkung für den antirachitischen Faktor des D-Vitamins spezifisch. Dies gilt nur unter einer Voraussetzung, daß nämlich die P-Ausfuhr unter der Behandlung dieselbe bleibt wie am unbehandelten Tier. Würde eine erhöhte P-Ausfuhr stattfinden, so könnte die erniedrigte Kurve auch darin ihre Ursache haben.

Eine solche Erhöhung der P-Ausfuhr ist aber nach allen vorliegenden Untersuchungen, vor allem bei Ultraviolettbestrahlung, wo im Gegenteil erhöhte Retentionen festgestellt wurden, nicht wahrscheinlich.

Die vorliegenden Untersuchungen sprechen dafür, daß eine Hemmung der Fermenttätigkeit eintritt. Dies geht besonders aus den Untersuchungen Warkanys hervor, der mit anorgan. P bei D-Hypervitaminose eine stark erhöhte Kurve

findet. Gelangt also bei der D-Hypervitaminose anorgan. P ins Blut, so wird es in erhöhtem Maße festgehalten, d. h. das Phosphatfassungsvermögen des Blutes ist bei D-Hypervitaminose erhöht. Würde sich aus dem organ. P eine nennenswerte Menge von anorgan. P bilden, so würde sie in diesem Falle in erhöhtem Maße festgehalten werden; wäre die Wirksamkeit der Phosphatasen eine normale, so müßte man eine übernormal hohe Kurve erhalten. Die Kurve ist aber im Gegenteil stark erniedrigt, woraus hervorgeht, daß eine Hemmung der Fermenttätigkeit vorliegt.

Am hypervitaminotischen Tier ist also nach den Untersuchungen von Warkany die phosphatämische Kurve mit anorg. gebundenem Phosphor stark erhöht, die Kurve mit organ. Phosphat, wie ich zeigen konnte, erniedrigt.

Ultraviolettbestrahlung des gesunden Organismus ändert nicht den Ablauf der phosphatämischen Kurve mit anorgan. gebundenem Phosphor (Bomskov, v. Rose), erniedrigt aber, wie ich feststellen konnte, die Kurve mit organ. gebundenem Phosphor in derselben Weise wie bei der Hypervitaminose.

Zusammenfassung.

Am gesunden Organismus wird die Tätigkeit der Phosphatasen durch toxische Vigantolgaben gehemmt. —

Diese Hemmung tritt auch nach kurz dauernder Ultraviolettbestrahlung ein.

An dieser Stelle sei es mir erlaubt, Herrn Professor Dr. Rominger für die freundliche Überlassung des Themas meinen herzlichsten Dank auszusprechen. Gleichzeitig sage ich Herrn Dr. Bomskov für die Anregung und Anleitung zur vorliegenden Arbeit meinen ergebensten Dank.

Literaturverzeichnis.

Adams:	Klin. Wo. 2. S. 1548.
Bomskov u. v. Rose:	Klin. Wo. 1931. II. S. 1956.
Demuth:	Biochem. ZS. Bd. 159. S. 415 u. Bd. 166. S. 162.
Ders.:	Monatsschrift für Kinderheilkunde. Bd. 31. S. 252.
Hensch-Kramar:	Klin. Wo. 1923. II. S. 2205.
Heymann:	Ber. über d. ges. Phys. Bd. 59. S. 578 u. 485.
Ders.:	Tagung der Gesellschaft für Kinderheilkunde. Wiesbaden 1930.
Ders.:	Biochem. ZS. Bd. 227. S. 1.
Ders.:	ZS. f. Kinderheilkunde. Bd. 49. S. 748 u. 761. Bd. 51. S. 673. Bd. 45. S. 233. Bd. 46. S. 584.
Ders.:	Monatsschrift für Kinderheilkunde. Bd. 48. S. 14.
Kay:	Journal biol. chem. Nov. 1930. Bd. 89. S. 235.
Pinkussen:	Ber. über d. ges. Phys. Bd. 54. S. 417.
Warkany:	ZS. f. Kinderheilkunde. Bd. 49. S. 261 u. 190. Bd. 46. S. 1 u. 716; Febr. 1930.
Ders.:	Klin. Wo. v. 11. 1. 1930.

Lebenslauf.

Am 5. Februar 1908 wurde ich als Sohn des Bauunternehmers Karl Rath und seiner Ehefrau Minna geb. Henrich in Kreuztal i. Westf. geboren. Nach vierjährigem Besuch der Volksschule wurde ich in die Rektoratschule in Kreuztal aufgenommen. 1920 trat ich in das Realgymnasium zu Siegen ein und wurde 1923 in die Untersekunda der Oberrealschule in Weidenau aufgenommen; dort legte ich 1927 die Reifeprüfung ab. Im April 1927 begann ich an der Universität zu Marburg mein medizinisches Studium. Im August 1929 bestand ich dort die ärztliche Vorprüfung. Dem klinischen Studium widmete ich mich in München, Hamburg und Kiel, wo ich am 14. Januar 1933 das Staatsexamen bestand.

Eidesstattliche Erklärung.

Ich versichere hiermit, daß ich vorliegende Arbeit ohne unerlaubte Hilfe angefertigt habe.

Günther Rath.